

## 女贞子活性成分抗肝纤维化作用机制研究进展

叶子雨<sup>1</sup>, 何学东<sup>2</sup>, 郑永军<sup>1</sup>, 李婉婧<sup>1</sup>, 曾晴勤<sup>1</sup>, 李瑞<sup>1</sup>, 刘梦琪<sup>1</sup>, 张璟<sup>3</sup>, 郑亚东<sup>1</sup>, 杨永春<sup>1</sup>, 赵金国<sup>4\*</sup>, 宋厚辉<sup>1\*</sup>

1. 浙江农林大学动物科技学院, 动物医学院, 浙江省畜禽绿色生态健康养殖应用技术研究重点实验室/动物健康互联网检测技术浙江省工程研究中心, 浙江省动物医学与健康国际科技合作基地, 中澳动物健康大数据分析联合实验室, 浙江 杭州 311300
2. 福建农林大学动物科学学院(蜂学院)/福建-台湾动物病原生物学重点实验室, 福建 福州 350002
3. 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所(国家热带病研究中心), 国家卫生健康委员会寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织热带病合作中心, 国家级热带病国际联合研究中心, 上海 200025
4. 甘肃省天水市动物疫病预防控制中心, 甘肃 天水 741000

**摘要:** 肝纤维化为“肝病-肝纤维化-肝硬化/肝癌”的中间环节, 存在于大部分肝病的发展过程中。有效逆转肝纤维化是防止其进一步发展的的重要手段, 但是目前还没有治疗肝纤维化的特效药, 而女贞子 *Ligustri Lucidi Fructus* 作为一种天然药用植物, 其活性成分具有抗肝纤维化功能。通过归纳梳理女贞子活性成分通过调控相关信号通路抗肝纤维化作用机制进行综述, 为进一步对女贞子靶向治疗肝纤维化的研究提供理论参考。

**关键词:** 女贞子; 肝纤维化; 肝脏星状细胞; 细胞信号通路; 红景天苷; 齐墩果酸; 芹菜素; 熊果酸; 委陵菜酸

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)04-1389-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.04.031

## Research progress on mechanism of active components of *Ligustri Lucidi Fructus* against hepatic fibrosis

YE Ziyu<sup>1</sup>, HE Xuedong<sup>2</sup>, ZHENG Yongjun<sup>1</sup>, LI Wanjing<sup>1</sup>, ZENG Qingqin<sup>1</sup>, LI Rui<sup>1</sup>, LIU Mengqi<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>3</sup>, ZHENG Yadong<sup>1</sup>, YANG Yongchun<sup>1</sup>, ZHAO Jinguo<sup>4</sup>, SONG Houhui<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of Applied Technology on Green-Eco-Healthy Animal Husbandry of Zhejiang Province, Zhejiang Provincial Engineering Research Center for Animal Health Diagnostics & Advanced Technology, Zhejiang International Science and Technology Cooperation Base for Veterinary Medicine and Health Management, China-Australia Joint Laboratory for Animal Health Big Data Analytics, College of Animal Science and Technology & College of Veterinary Medicine of Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China
2. College of Animal sciences (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fujian-Taiwan Key Laboratory of Animal Pathogen Biology, Fuzhou 350002, China
3. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention (Chinese Center for Tropical Diseases Research); NHC Key Laboratory of Parasite and Vector Biology; WHO Collaborating Centre for Tropical Diseases; National Center for International Research on Tropical Diseases, Shanghai 200025, China
4. Tianshui Province Animal Disease Prevention and Control Center, Tianshui 741000, China

**Abstract:** Hepatic fibrosis (HF) is a middle stage of “liver disease-hepatic fibrosis-cirrhosis/liver cancer”, involved in the development of most liver diseases. To prevent further deterioration of liver disease, effective reversal of HF is an important measure, but currently there is no special-effect drug for the treatment of HF. However, Nvzhenzi (*Ligustri Lucidi Fructus*), as a natural medicinal plant, has

收稿日期: 2023-09-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(32102671); 浙江农林大学学生科研训练项目资助(2023KX087)

作者简介: 叶子雨, 硕士研究生, 研究方向为亚热带虫媒病。E-mail: y867850414@163.com

\*通信作者: 赵金国, 男, 兽医师, 从事动物疾病防控研究。E-mail: zhaojg110@163.com

宋厚辉, 男, 教授, 从事动物预防与公共卫生研究。E-mail: songhh@zafu.edu.cn

active ingredients with anti-hepatic fibrosis function. By summarizing the mechanism of action of the active ingredients of *Ligustri Lucidi Fructus* in anti-HF by regulating related signaling pathways, this study provides a theoretical reference for the further research on the targeted treatment of HF by *Ligustri Lucidi Fructus*.

**Key words:** *Ligustri Lucidi Fructus*; hepatic fibrosis; hepatic stellate cells; cell signaling pathway; salidroside; oleanolic acid; apigenin; ursolic acid; tormentic acid

肝纤维化为一种以细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 异常沉积为特征的病理过程, 是造成全球疾病负担增加的重要因素<sup>[1]</sup>。因病毒/寄生虫感染、炎症、机械损伤、自身免疫性疾病等因素, 肝脏中的非实质细胞即肝脏星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 激活, 转化成肌成纤维细胞, 分泌大量的 ECM 并在肝脏间质中沉积, 形成瘢痕<sup>[2]</sup>。一般情况下, 机会自动启动抗纤维化反应, 使肌成纤维细胞逆转为 HSC 或发生凋亡, 促进瘢痕消退, 但在慢性肝病中, 肌成纤维细胞会持续激活, 使促纤维化和抗纤维化失衡, 从而导致 ECM 的过度合成, 最终引起肝纤维化<sup>[3]</sup>。肝纤维化作为从慢性肝病最终发展为肝衰竭/肝癌的中间环节, 如何逆转肝纤维化是目前具有十分重要研究意义的热点课题。女贞子是木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实, 又名“冬青子”, 具有十分高的药用价值<sup>[4]</sup>, 《神农本草经》曾记载“女贞实, 味苦平, 主补中, 安五脏, 养精神, 除百病”<sup>[5]</sup>。女贞子含有多种活性成分, 如三萜类: 齐墩果酸、熊果酸、乙酰齐墩果酸等; 环烯醚萜类: 女贞苷、特女真苷等; 黄酮类: 芹菜素、槲皮素等; 苯乙醇苷类: 红景天苷、毛蕊花苷等, 具有调节保肝、免疫、抗癌、抗肿瘤等功效<sup>[6]</sup>。此外, 女贞子还含有一些多糖、脂肪酸等<sup>[7]</sup>。本文基于转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) / Smad、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 4, NOX4) / 活性氧、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK)、Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) / 信号转导与转录激活子 (signal transducers and activators of transcription, STAT)、核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 等信号通路相关研究, 就女贞子的抗肝纤维化作用机制进行综述, 为女贞子的临床应用提供参考。

## 1 肝纤维化

慢性肝病发展到后期时, 肝细胞受损严重, 炎

性细胞浸润并分泌大量的炎症因子, 导致 HSC 激活并增殖。正常情况下, HSC 以静息状态存在于肝脏的窦周隙中<sup>[2,8]</sup>, 参与调节 ECM 的产生和降解, 以及肝窦血流。然而, 当肝脏受损时, 肝脏血窦内散在的组织驻留巨噬细胞即库普弗细胞激活, 在多种细胞因子的共同作用下, 促进 HSC 活化。因 HSC 表达 TGF- $\beta$ 1 受体, 同时也可以分泌 TGF- $\beta$ 1, 在这种情况下形成正反馈调节环路, 导致 HSC 持续激活。激活的 HSC 转化为肌成纤维细胞, 使  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA), I、III 型胶原蛋白, 纤连蛋白及层黏连蛋白等一些促纤维化相关蛋白表达增加。正常情况下, ECM 的合成与降解受基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 和基质金属蛋白酶抑制因子 (tissue inhibitors of MMP, TIMPs) 的调控, 处于动态平衡, 但在肝纤维化发生时, 该平衡遭到破坏, ECM 合成增加、降解减少, 导致 ECM 出现过度合成, 进而引起肝纤维化的发生<sup>[9]</sup>。

## 2 女贞子活性成分抗肝纤维化作用机制

### 2.1 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路的调节机制

TGF- $\beta$  家族成员主要包括 TGF- $\beta$ 、骨形态发生蛋白及激活素等, 其中 TGF- $\beta$  激活并介导 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路, 促使 HSC 转化为肌成纤维细胞, 在肝纤维化发生过程中具有重要作用<sup>[10]</sup>。TGF- $\beta$ /Smad 信号通路的组成主要包括 3 部分: 位于胞外的 TGF- $\beta$  配体、细胞膜表面 TGF- $\beta$  受体及胞内传递信号的 Smad 蛋白<sup>[11]</sup>。Smad 蛋白在 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路的下游发挥作用, 直接参与并影响肝纤维化发生<sup>[12]</sup>。

TGF- $\beta$ /Smad 有 2 种存在形式: 基础状态和激活状态<sup>[10,13]</sup>。当处于基础状态时, TGF- $\beta$  配体被 ECM 或其他物质隔离, 以复合物形式稳定存在, 使其无法与受体结合而发挥作用, 但当其被激活时, TGF- $\beta$  配体从相应的复合物中解离出来, 与细胞膜上的丝氨酸/苏氨酸激酶即 I 型受体 (TGF- $\beta$  type I receptor, T $\beta$ R-I) 和 T $\beta$ R-II 直接结合, 或在其他辅助分子的作用下再与上述 2 种受体结合。之后, T $\beta$ R-

II 作用于 T $\beta$ R-I 近膜调控区, 使之发生磷酸化, 而引起受体调控型 Smad (receptor-regulated Smad, R-Smad) 进行磷酸化反应, 最后磷酸化的 R-Smad 与 Smad3 形成复合体入核并调控相应基因的表达<sup>[10]</sup>。

黄酮类成分对肝脏具有独特的保护作用, 可缓解肝纤维化的发生<sup>[14-15]</sup>, 其中芹菜素是女贞子中主要的黄酮类成分, 其还存在于柑橘类水果、欧芹和芹菜叶等植物中<sup>[16]</sup>。在 CCl<sub>4</sub> 和胆管结扎的肝纤维化动物疾病模型中, 芹菜素可下调 TGF- $\beta$ 1、Smad3、p-Smad3 的表达, 说明芹菜素可抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad3 通路; 通过测定血清中的丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平, 及苏木精-伊红和 Masson 染色, 发现芹菜素可显著改善肝细胞的排列紊乱, 纤维组织增生和炎性细胞浸润明显减少, 可见芹菜素对肝纤维化有一定的治疗作用, 可能与抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad3 通路有关<sup>[17]</sup>。此外, 女贞子中的木犀草素、槲皮素和花旗松素等其他一些黄酮类成分也可通过该通路发挥抗肝纤维化作用。其中, 木犀草素广泛存在于菊花、胡椒、洋葱等多种植物中, 是天然的四羟基黄酮类成分, 其药理作用广泛, 包括抗肿瘤、抗氧化等<sup>[18]</sup>。通过探究木犀草素影响 HSC 增殖、激活等的相关机制, 发现其可以显著抑制 Smad2 和 Smad3 的磷酸化, 表明木犀草素可以抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad3 通路, 具有抗肝纤维化的潜力<sup>[19]</sup>。槲皮素也是一种广泛存在于多种植物的黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎等多种功能<sup>[20]</sup>。同样, 槲皮素也可显著降低血清中 TGF- $\beta$ 1、p-Smad2 和 p-Smad3 的水平; 免疫组织化学染色显示, 经槲皮素处理后肝脏组织中 TGF- $\beta$ 1、p-Smad2 和 p-Smad3 的表达水平显著下降, 提示槲皮素对 TGF- $\beta$ 1/Smad3 通路具有抑制作用<sup>[21]</sup>。此外, 通过检测肝纤维化小鼠模型肝脏中的 AST 和 ALT, 发现槲皮素可降低 AST、ALT 水平, 减轻肝纤维化的发展程度。以上结果提示, 槲皮素可通过 TGF- $\beta$ 1/Smad3 通路抑制肝纤维化<sup>[21]</sup>。花旗松素存在于长白落叶松、黄芪、洋葱等诸多植物中, 具有 4 个酚羟基和 1 个羟基, 由于这种特殊的化学结构, 使其成为最强效的天然抗氧化剂, 具有抗氧化应激、保肝等多种药理作用<sup>[22]</sup>。通过探究花旗松素保肝作用及其分子机制, 发现相较于 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化模型组, 花旗松素 20、40、80 mg/kg 处理组中 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 的 mRNA 及蛋白水平显著下调, 且 40、80 mg/kg 剂量

组中 Smad3 的蛋白水平也呈下调趋势<sup>[23]</sup>, 表明花旗松素可以通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad3 信号通路抑制 HSC 的活化, 从而发挥抗肝纤维化作用。

苯乙醇苷类化合物为一类天然糖苷类化合物。到目前为止, 已从女贞子中分离出了 18 种苯乙醇苷类化合物, 如红景天苷和松果菊苷等<sup>[7]</sup>。其中, 松果菊苷由糖基、苯丙烯基和苯乙醇基构成, 大量存在于松果菊属植物的根茎中, 具有保肝、抗肿瘤、消炎等作用<sup>[24]</sup>。研究发现, 松果菊苷可下调 Smad2、Smad3 的表达及其磷酸化水平, 同时上调 Smad7 的表达, 提示松果菊苷通过抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路, 具有调节 HSC 活化的潜在功能<sup>[25]</sup>。红景天苷作为女贞子中主要药效成分之一, 其药理作用十分广泛, 具有保肝、抗肿瘤、抗氧化应激等功能<sup>[26]</sup>。红景天苷可通过下调 HSC 中 TGF- $\beta$ 1 的表达抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路, 影响 HSC 的激活和自噬, 导致 ECM 合成下降, 促进失衡的 MMP2 和 TIMP1 恢复正常<sup>[9]</sup>。岳学良<sup>[27]</sup>通过研究红景天苷对 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠肝纤维化模型的影响, 发现其可有效缓解肝纤维化, 且与模型组相比, 红景天苷 20、40 mg/kg 组的肝组织中 TGF- $\beta$  及 Smad3 的表达量均显著下调, 提示红景天苷可能通过 TGF- $\beta$ /Smad3 信号通路抑制肝纤维化发生。

女贞子中还含有一些环烯醚萜类和三萜类化合物, 可能通过 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路发挥潜在的抗肝纤维化作用。女贞苷是女贞子中具有多种药理作用的环烯醚萜类物质活性成分<sup>[28]</sup>。体内实验表明, 女贞苷可以降低肝纤维化小鼠的肝脏指数, 下调肝脏 ALT、AST 的表达, 说明女贞苷可以有效改善 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化中的肝损伤程度。同时, 女贞苷也可降低肝脏 HSC 中 I 型胶原蛋白、 $\alpha$ -SMA, 及 T $\beta$ R-I、T $\beta$ R-II、p-Smad2、p-Smad3 和 Smad4 的表达。这些研究结果提示, 女贞苷可能通过 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路缓解肝纤维化<sup>[29]</sup>。委陵菜酸是一种五环三萜化合物, 广泛存在于蔷薇科、紫草科植物中, 具有保肝、消炎镇痛、抗氧化等多种药理活性<sup>[30]</sup>。研究表明, 委陵菜酸不仅可显著抑制 HSC 的活化, 而且还能显著下调 Smad4 的表达, 提示委陵菜酸可能通过 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路调节 HSC 的活化<sup>[31]</sup>。

## 2.2 NOX4/活性氧信号通路的调节机制

NOX4 是 NOX 中的一员。NOX 是由 6 种蛋白质亚基 (gp91<sup>phox</sup>、p22<sup>phox</sup>、p47<sup>phox</sup>、p40<sup>phox</sup>、p67<sup>phox</sup> 和小 GTP 连接酶 Rac) 组成的复合体<sup>[32-33]</sup>, 主要存

在于吞噬细胞的胞质及细胞膜上,其产生的活性氧可引起强烈的炎症反应,起到清除病原的作用;非吞噬细胞中的 NOX 同样也可产生活性氧,但其作用主要是调控细胞凋亡、增殖等<sup>[34]</sup>。在肝损伤过程中,NOX4 通过诱导 p22<sup>phox</sup> 亚基的表达促进活性氧的合成,进而激活酪氨酸蛋白激酶,引发氧化应激反应<sup>[35]</sup>;肝细胞中高浓度的活性氧能抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶,诱发细胞凋亡<sup>[36]</sup>。此外,NOX4 还参与 HSC 的增殖和凋亡,并在肌成纤维细胞的迁移过程中发挥重要功能<sup>[37]</sup>。

熊果酸是女贞子中的一种三萜类化合物,具有保肝、调节血脂、抗骨骼肌萎缩等多种药理作用<sup>[38]</sup>。研究发现,熊果酸可抑制 HSC 中 NOX4 的表达,缓解肝组织的氧化应激反应。并且,熊果酸还可抑制 HSC 的活化及肝细胞的凋亡<sup>[39]</sup>。可能是通过抑制促肝纤维化因子血管紧张素 II (angiotensin II, AngII) 引起的 NOX 活化,进而抑制 HSC 的增殖及 I 型胶原蛋白合成实现的<sup>[40-41]</sup>。这些研究结果表明,熊果酸可通过 NOX4/活性氧信号通路逆转肝纤维化发生。

羟基酪醇为苯乙醇苷类化合物,也是女贞子中的有效成分之一,其为木犀科植物中以酯类形式存在的天然多酚化合物,具有抗氧化活性<sup>[42]</sup>。酪醇和羟基酪醇均能显著下调 NOX4 的表达,抑制 HSC 的活化,从而发挥抗肝纤维化作用<sup>[43]</sup>。

### 2.3 PI3K/Akt 信号通路的调节机制

PI3K 是位于 PI3K/Akt 信号通路上游的重要分子,其激活后可将磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2) 磷酸化为 PIP3<sup>[44]</sup>。在磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 (phosphoinositide-dependent protein kinase, PDK) 的作用下,PIP3 将 Akt 募集到质膜上并使之发生磷酸化,从而激活 Akt<sup>[45]</sup>,正向调控细胞周期,促进 HSC 的活化增殖及胶原蛋白的合成,进而导致肝纤维化发生<sup>[46]</sup>。

女贞子中的熊果酸和委陵菜酸可通过 PI3K/Akt 信号通路发挥抗肝纤维化功能。研究发现,大鼠肝星状 HSC-T6 细胞经 AngII 刺激后,PI3K/Akt 信号通路相关蛋白 (PI3K、p-Akt、p-p38 和 MAPK) 的表达明显升高,说明 AngII 可以激活 PI3K/Akt 信号通路。与 AngII 组相比,熊果酸+AngII 组中 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的表达及 I 型胶原蛋白 mRNA 的水平显著下降,同时 HSC 的活化增殖程

度也显著降低,提示熊果酸可通过 PI3K/Akt 信号通路抑制 HSC 活化增殖,使 I 型胶原蛋白合成减少,从而缓解肝纤维化<sup>[40]</sup>。与熊果酸相似,委陵菜酸也可显著下调 HSC 中 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路相关蛋白 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 和磷酸化黏着斑激酶的表达水平,提示委陵菜酸可通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调节肝纤维化<sup>[47]</sup>。

女贞子中的黄酮类化合物芹菜素、槲皮素和花旗松素同样也可通过 PI3K/Akt 信号通路发挥抗肝纤维化功能<sup>[21,23,48]</sup>。其中,芹菜素能够缓解肝纤维化小鼠的肝脏损伤程度,减轻其病理变化,同时对上皮细胞间质转化也具有明显的抑制作用。进一步研究发现,芹菜素可显著抑制 p-PDK1 和 p-Akt 表达水平,提示芹菜素的抗纤维化作用可能是通过抑制 PDK1/Akt 信号通路而实现的<sup>[48]</sup>。同样,槲皮素也能有效降低血清中 p-PI3K、p-Akt 及肝脏组织中 p-Akt 的表达;在小鼠肝纤维化模型中,槲皮素可抑制 HSC 活化、促进 ECM 降解,提示槲皮素对肝纤维化的抑制作用可能与 PI3K/Akt 通路密切相关<sup>[21]</sup>。

### 2.4 p38 MAPK 信号通路的调节机制

MAPK 是一种分布于胞浆中的蛋白激酶,作为 MAPK 家族中的重要一员<sup>[49]</sup>,具有对丝氨酸和酪氨酸双重磷酸化的能力,可通过结合膜受体及调控胞内因子参与信号转导,最终以保守的三级激酶级联形式激活并参与肝纤维化等多种疾病的发生<sup>[50]</sup>。研究证明,p38 MAPK 的表达可以促进 HSC 的活化,加快肝纤维化发展进程。并且,HSC 活化程度越高,p-p38 MAPK 水平也越高;在阻断 p38 MAPK 信号通路后,HSC 活化程度显著降低<sup>[19,51]</sup>。

女贞子中白桦脂醇属于三萜类化合物,具有抗艾滋病、抗肿瘤等活性。白桦脂醇是 p38 MAPK 信号通路的抑制剂,可显著降低乙醇诱导的 p38 MAPK 磷酸化水平<sup>[52]</sup>,但其是否具有抗肝纤维化的功能仍需实验进一步确定。女贞子中的另 1 种三萜类化合物也具有类似的作用:在 HSC-T6 细胞中,熊果酸可以抑制瘦素诱导的 p-p38 MAPK 水平,其抑制效果与 p38 MAPK 抑制剂 SB203580 相似<sup>[53]</sup>,提示熊果酸可负调节 p38 MAPK 信号通路,进而发挥抗肝纤维化的作用。

橄榄苦苷是女贞子中一种具有天然裂环烯醚萜苷骨架的多酚化合物,具有抗癌、抗氧化、抗炎等活性<sup>[54]</sup>。利用肝纤维化小鼠模型发现,橄榄苦苷具

有减轻肝脏病理损伤的作用,并且与对照组相比,橄榄苦苷组的肝组织中 p38 磷酸化水平和转录因子 ETS 结构域蛋白 (transcription factor ETS domain-containing protein, ELK-3) 蛋白表达显著下调<sup>[55]</sup>,表明橄榄苦苷可能通过 p38 MAPK/ELK-3 信号通路参与调节肝纤维化发生。

槲皮素作为女贞子中的一种黄酮类化合物,其抗肝纤维化作用较为复杂<sup>[21,56]</sup>。除 TGF- $\beta$ /Smad 和 PI3K/Akt 信号通路外,槲皮素还可通过 p38 MAPK 信号通路调控肝纤维化<sup>[57]</sup>。

### 2.5 JAK/STAT 信号通路的调节机制

JAK 是主要分布在细胞膜表面的一类蛋白激酶,参与细胞因子受体介导的信号转导,处于 JAK/STAT 信号通路中的上游,其家族成员有 JAK1、JAK2、JAK3、TYK2 等<sup>[58]</sup>。STAT 是一类具有信号转导与转录激活功能的胞浆蛋白,作为 JAK 的底物,发挥信号转导功能,可将信号从上游传递入核,调控相应基因的表达。目前,STAT 家族成员共有 7 个:STAT1~4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6<sup>[59]</sup>。在肝纤维化发生过程中,JAK/STAT 信号通路发挥着重要作用<sup>[60]</sup>。肝纤维化相关分子,如瘦素、 $\alpha$  干扰素、白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 等,在与 HSC 细胞膜上的特异性受体结合后,会激活胞内 JAK/STAT 信号通路,逐步将信号转导入核,调控相关靶基因的表达<sup>[60]</sup>。

瘦素是引起肝纤维化的一类重要因子,可激活 JAK2/STAT3 信号通路。但经熊果酸处理后,瘦素激活的 HSC 中的 p-JAK2 和 p-STAT3 表达水平会显著下降,且与 JAK 抑制剂 AG490 相比,二者的抑制效果相近<sup>[61]</sup>,提示熊果酸能抑制瘦素诱导的 JAK2/STAT3 信号通路的激活,具有潜在的抗肝纤维化功能。与熊果酸相似,木犀草素也可呈剂量相关性显著降低 p-STAT3 水平,提示其抗肝纤维化功能可通过抑制 STAT 信号通路实现<sup>[62]</sup>。

### 2.6 NF- $\kappa$ B 信号通路的调节机制

NF- $\kappa$ B 在机体正常或患病状态下均可表达,参与多种转录调控,在肝纤维化发生过程中具有重要作用。Rel 蛋白质家族是一类与 NF- $\kappa$ B 结构相关的蛋白,包括 p50、p52、p65、RelB 和 c-Rel,能够入核与相应靶基因结合,发挥调控作用<sup>[63]</sup>。在肝纤维化发生过程中,库普弗细胞通过 NF- $\kappa$ B 信号通路合成各种炎症因子,不断激活 HSC,同时抑制激活的 HSC 发生凋亡,促进肝纤维化进一步发展<sup>[64]</sup>。

在女贞子中,一些三萜类化合物可通过 NF- $\kappa$ B 信号通路调节肝纤维化发生,包括熊果酸、委陵菜酸、白桦脂醇和白桦脂酸等。其中,熊果酸可通过抑制 NOX 的激活,下调 NF- $\kappa$ B 的活性,从而降低 HSC 细胞增殖、转化及 ECM 的合成,减缓肝纤维化进程<sup>[65]</sup>。与熊果酸不同,委陵菜酸则是通过下调 NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白 p-p65、p-I $\kappa$ B- $\alpha$  和 p-IKK $\alpha$ / $\beta$  磷酸化水平,抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路,促进 HSC 的凋亡,抑制 ECM 的产生与沉积<sup>[66-67]</sup>。同样,白桦脂醇和白桦脂酸也可下调 NF- $\kappa$ B 及 p-I $\kappa$ B $\alpha$  的水平,抑制 HSC 的活化,说明白桦脂醇和白桦脂酸也可通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路在肝纤维化发生过程中发挥作用<sup>[52]</sup>。

此外,还有某些黄酮类、苯乙醇苷类化合物同样可以通过该通路发挥抗肝纤维化功能,包括槲皮素<sup>[56]</sup>、红景天苷<sup>[68]</sup>等。

## 3 结语与展望

自“禁抗令”实施以来,中药因无明显的不良反应、来源广泛、易获得、药理作用广等优点受到人们的广泛关注,其替代抗生素已然成为了一种趋势。本文基于在肝纤维化发生过程中发挥重要作用的信号通路,包括 TGF- $\beta$ /Smad、NOX4/活性氧、PI3K/Akt、p38 MAPK、JAK/STAT 和 NF- $\kappa$ B 等,对女贞子活性成分的抗肝纤维化作用机制进行归纳总结(图 1)。熊果酸、芹菜素、槲皮素和花旗松素等各种女贞子中的活性成分,可通过以上一种或多种信号通路抑制 HSC 活化增殖与肌成纤维细胞形成、调节 HSC 细胞凋亡、维持 MMP 和 TIMP 间的平衡等,减少 ECM 合成,发挥抗肝纤维化功能。

女贞子中的一些活性成分可通过多种信号通路参与调控肝纤维化发生,如花旗松素可通过 PI3K/Akt/mTOR 和 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路发挥抗肝纤维化作用,红景天苷可通过 TGF- $\beta$ /Smad 和 NF- $\kappa$ B 信号通路发挥抗肝纤维化作用,但这些信号通路间是如何互相协调发挥作用,不同活性成分通过同种信号通路发挥作用时是否存在竞争关系,是后续需要深入研究的内容。再者,对于肝纤维化病理模型而言,常用的建模方法主要为 4 类:化学药物注射法、特殊饮食饲喂法、遗传修饰法、手术法<sup>[69]</sup>。其中 CCl<sub>4</sub> 皮下注射法因便捷、低廉、易于重复等优势而被广泛应用,但啮齿类动物对 CCl<sub>4</sub> 的毒性敏感,在造模过程中极易因剂量过大而引起动物死亡,需根据动物种类、体质量等因素斟酌用药剂量、配比、给药

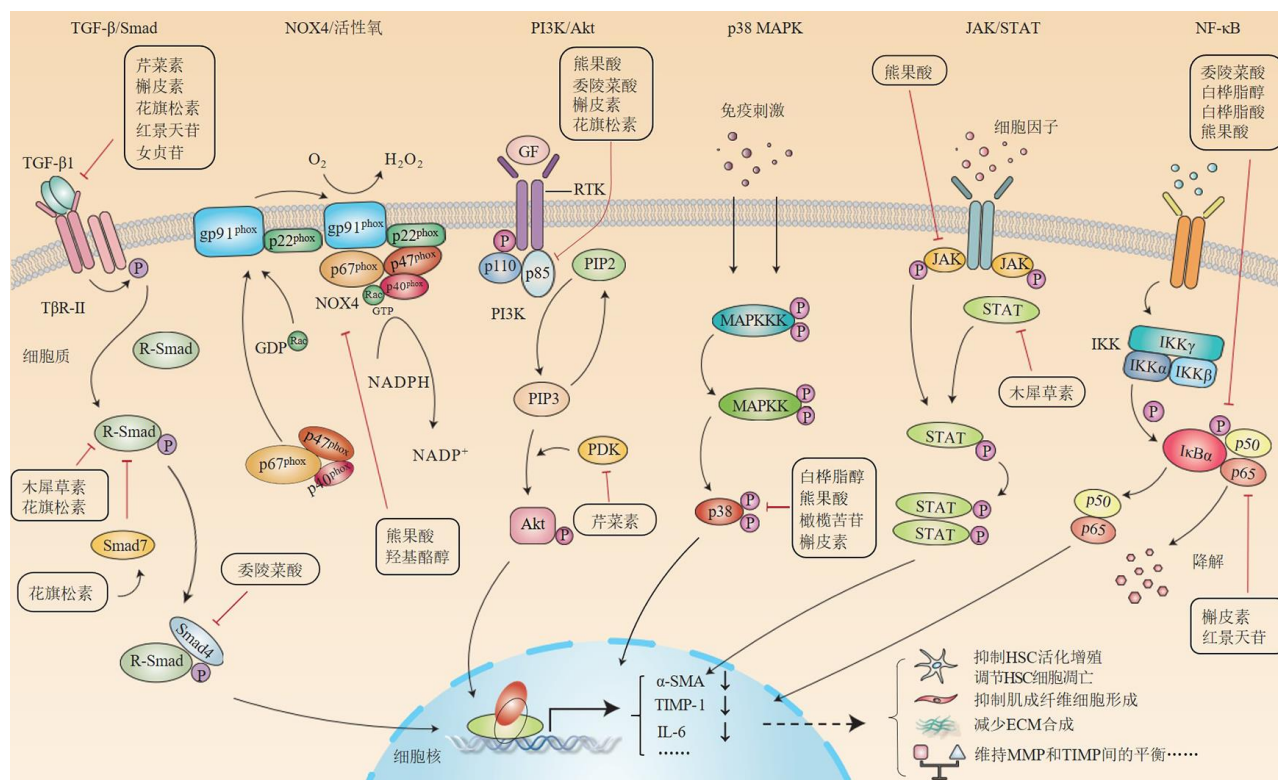


图 1 女贞子活性成分抗肝纤维化的作用机制

Fig. 1 Mechanisms of anti-fibrosis by active ingredients of *Ligustri Lucidi Fructus*

频率及给药时间。目前中药单体或复方抗肝纤维化的作用研究大多采用 CCl<sub>4</sub> 皮下注射建模, 病因较单一, 但在临床上肝纤维化的病因却多种多样, 因此在解析女贞子等中草药抗肝纤维化的作用机制时, 利用 CCl<sub>4</sub> 肝纤维化模型是否合适也需进一步商榷。此外, 女贞子中还存在一些未解析的物质, 这些物质与已知物质是否存在协同或拮抗作用, 仍需要深入研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 曹梦珍, 黄倩, 牛明, 等. 基于抗肝纤维化生物活性及近红外谱效相关的鳖甲质量评价研究 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3150-3157.

[2] Shan L, Liu Z N, Ci L L, et al. Research progress on the anti-hepatic fibrosis action and mechanism of natural products [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105765.

[3] Roehlen N, Crouch E, Baumert T F. Liver fibrosis: Mechanistic concepts and therapeutic perspectives [J]. *Cells*, 2020, 9(4): 875.

[4] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 47.

[5] 杨正标, 苏洁, 陈素红, 等. 女贞子不同提取部位对肾阴虚大鼠内分泌系统的影响 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 168-170.

[6] 张娜娜, 张振巍, 石磊. 女贞子抗肿瘤活性成分提取工艺考察 [J]. 中国药师, 2015, 18(2): 215-219.

[7] 刘美红, 邹峥嵘. 女贞子化学成分、药理作用及药理学研究进展 [J]. 热带亚热带植物学报, 2022, 30(3): 446-460.

[8] Devaraj E, Perumal E, Subramaniyan R, et al. Liver fibrosis: Extracellular vesicles mediated intercellular communication in perisinusoidal space [J]. *Hepatology*, 2022, 76(1): 275-285.

[9] Feng J, Chen K, Xia Y J, et al. Salidroside ameliorates autophagy and activation of hepatic stellate cells in mice via NF-κB and TGF-β1/Smad3 pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 1837-1853.

[10] 韩道宁, 苏秀兰. TGF-β/Smad 信号通路在肝纤维化中的研究进展 [J]. 生物医学转化, 2021, 2(3): 49-56.

[11] 胡欣欣, 孟晓凡, 徐圣洁, 等. TGF-β1/Smad 信号通路与肾间质纤维化 [J]. 生命的化学, 2023, 43(4): 601-609.

[12] 田珺莹, 唐嘉利, 黄兰, 等. 中药干预 TGF-β1/Smads 信号通路对酒精性肝纤维化的调控作用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2022, 43(9): 92-96.

[13] 傅柳, 尚广彬, 陈中, 等. 中药逆转肝纤维化进程的研究概况 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 944-948.

[14] Guo Y J, Liang X M, Meng M Y, et al. Hepatoprotective effects of Yulangsan flavone against carbon tetrachloride

- (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic fibrosis in rats [J]. *Phytomedicine*, 2017, 33: 28-35.
- [15] Xu D H, Mei X T, Chen Y, *et al.* Protective effects of 5,4'-dihydroxy-3',5'-dimethoxy-7-O-beta-D-glucopyranosyloxy-flavone on experimental hepatic injury [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(12): 1764-1768.
- [16] 付海洋, 姜良勇, 齐亚军, 等. 芹菜素药理作用的研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(10): 787-792.
- [17] Ji J, Yu Q, Dai W Q, *et al.* Apigenin alleviates liver fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and autophagy via TGF- $\beta$ 1/Smad3 and p38/PPAR $\alpha$  pathways [J]. *PPAR Res*, 2021, 2021: 6651839.
- [18] 姜亚玲, 李文渊, 冯爽, 等. 木犀草素的结构修饰及其生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6889-6902.
- [19] Parsons C J, Takashima M, Rippe R A. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(Suppl 1): S79-S84.
- [20] 李阳杰, 曹瑞梅, 毛雅君, 等. 槲皮素的结构修饰及生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1636-1653.
- [21] Wu L W, Zhang Q H, Mo W H, *et al.* Quercetin prevents hepatic fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and reducing autophagy via the TGF- $\beta$ 1/Smads and PI3K/Akt pathways [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9289.
- [22] 张星艳, 李新, 李虎玲, 等. 花旗松素植物来源、提取方法和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2214-2226.
- [23] Liu X L, Liu W C, Ding C B, *et al.* Taxifolin, extracted from waste *Larix olgensis* roots, attenuates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis by regulating the PI3K/Akt/mTOR and TGF- $\beta$ 1/smads signaling pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 871-887.
- [24] 冯茜, 董波, 杨旭红. 松果菊苷治疗神经系统疾病作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1654-1662.
- [25] You S P, Ma L, Zhao J, *et al.* Phenylethanolic glycosides from *Cistanche tubulosa* suppress hepatic stellate cell activation and block the conduction of signaling pathways in TGF- $\beta$ 1/smads as potential anti-hepatic fibrosis agents [J]. *Molecules*, 2016, 21(1): 102.
- [26] 张明发, 沈雅琴. 女贞子及其活性成分防治呼吸系统疾病的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(11): 2349-2362.
- [27] 岳学良. 红景天苷对肝纤维化的保护作用及其机制研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
- [28] 张越, 李琳, 李晓光, 等. 女贞苷对 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 损伤 SH-SY5Y 细胞的保护作用及其机制 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2016, 37(1): 49-54.
- [29] Kang R, Tian W, Cao W, *et al.* Ligustroflavone ameliorates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis through down-regulating the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway [J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19(3): 170-180.
- [30] 张晶, 刘洋, 李灵芝. 委陵菜酸药理活性研究现状 [J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2016, 25(1): 68-71.
- [31] 劳玲玲. 委陵菜积雪草酸对非酒精性脂肪肝细胞脂质代谢的影响及作用机制研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2019.
- [32] Qu Y, Zhang Q D, Cai X B, *et al.* Exosomes derived from miR-181-5p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells prevent liver fibrosis via autophagy activation [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(10): 2491-2502.
- [33] Ning Z W, Luo X Y, Wang G Z, *et al.* MicroRNA-21 mediates angiotensin II-induced liver fibrosis by activating NLRP3 inflammasome/IL-1 $\beta$  axis via targeting Smad7 and Spry1 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 27(1): 1-20.
- [34] 杨小瑜. 肝纤维化的发病机制研究进展 [J]. 山东医药, 2017, 57(11): 108-110.
- [35] Zhang X, Xu Y, Chen J M, *et al.* Huang qi decoction prevents BDL-induced liver fibrosis through inhibition of Notch signaling activation [J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(1): 85-104.
- [36] Breitkopf-Heinlein K, Meyer C, König C, *et al.* BMP-9 interferes with liver regeneration and promotes liver fibrosis [J]. *Gut*, 2017, 66(5): 939-954.
- [37] 彭婕. NOX4 在肝纤维化模型小鼠中的表达及与肝纤维化的关系 [D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
- [38] 田春风, 郭宇帆, 商佳琪, 等. 熊果酸的生物活性研究进展 [J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(6): 1361-1365.
- [39] 罗方云. NOX4/ROS 和 RhoA/ROCK1 信号通路在肝纤维化中的作用及熊果酸的干预靶点 [D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [40] 陈涛, 何文华, 朱萱, 等. 熊果酸对血管紧张素 II 诱导肝星状细胞内 NADPH 氧化酶的活化及下游信号通路的影响 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2015, 35(1): 17-22.
- [41] 施凤. 熊果酸对大鼠活化型肝星状细胞的 NOX 及其调控的信号网络的影响 [D]. 南昌: 南昌大学, 2013.
- [42] 唐娟, 刘琳, 李承蔓, 等. 羟基酪醇的药理作用和药代动力学研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 241-250.
- [43] Gabbia D, Carpi S, Sarcognato S, *et al.* The phenolic compounds tyrosol and hydroxytyrosol counteract liver fibrogenesis via the transcriptional modulation of NADPH oxidases and oxidative stress-related miRNAs [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 157: 114014.
- [44] Engelman J A. Targeting PI3K signalling in cancer: Opportunities, challenges and limitations [J]. *Nat Rev*

- Cancer*, 2009, 9(8): 550-562.
- [45] Martelli A M, Faenza I, Billi A M, *et al.* Intracellular 3'-phosphoinositide metabolism and Akt signaling: New mechanisms for tumorigenesis and protection against apoptosis? [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(8): 1101-1107.
- [46] 罗晓旭. PI3K/Akt 信号通路及肝星状细胞活化的关系及其在放射性肝纤维化中的作用 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2016.
- [47] 李艳, 张晓琳, 韦园园, 等. 委陵菜酸调控 PI3K/Akt/mTOR 通路对肝星状细胞活化增殖的影响 [J]. *中成药*, 2022, 44(6): 1965-1969.
- [48] 陈鑫栋, 仲威龙, 闫佩瑶, 等. 芹菜素通过 PDK1/Akt 信号通路抑制小鼠肝纤维化 [J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(7): 1010-1016.
- [49] Ito K, Hirao A, Arai F, *et al.* Reactive oxygen species act through p38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells [J]. *Nat Med*, 2006, 12(4): 446-451.
- [50] 杨清高, 刘绍能. P38 MAPK 信号通路及肝纤维化 [J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20(24): 2231-2236.
- [51] 吴凌康, 厉有名, 刘英超, 等. 高糖诱导下肝星形细胞活化与 p38 MAPK 信号通路的关系 [J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2015, 42(2): 91-94.
- [52] Szuster-Ciesielska A, Plewka K, Daniluk J, *et al.* Betulin and betulinic acid attenuate ethanol-induced liver stellate cell activation by inhibiting reactive oxygen species (ROS), cytokine (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) production and by influencing intracellular signaling [J]. *Toxicology*, 2011, 280(3): 152-163.
- [53] He W H, Shi F, Zhou Z W, *et al.* A bioinformatic and mechanistic study elicits the antifibrotic effect of ursolic acid through the attenuation of oxidative stress with the involvement of ERK, PI3K/Akt, and p38 MAPK signaling pathways in human hepatic stellate cells and rat liver [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3989-4104.
- [54] 汪浅, 葛怡青, 仝涛. 橄榄苦苷的生物活性研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(19): 479-486.
- [55] 朱金璞, 李天柱. 橄榄苦苷改善肝纤维化机制的实验研究 [J]. *北京医学*, 2022, 44(12): 1108-1112.
- [56] 徐浩然, 程国良, 黄志伟, 等. 女贞药用价值及其相关上市药品的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(5): 1663-1671.
- [57] Wang R, Zhang H, Wang Y Y, *et al.* Inhibitory effects of quercetin on the progression of liver fibrosis through the regulation of NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$ , p38 MAPK, and Bcl-2/Bax signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 47: 126-133.
- [58] O'Shea J J, Notarangelo L D, Johnston J A, *et al.* Advances in the understanding of cytokine signal transduction: The role of JAKs and STATs in immunoregulation and the pathogenesis of immunodeficiency [J]. *J Clin Immunol*, 1997, 17(6): 431-447.
- [59] 潘金, 琺坚. JAK/STAT 信号转导通路在肝纤维化形成中的作用 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2013, 29(5): 393-396.
- [60] Weng H L, Mertens P R, Gressner A M, *et al.* IFN-gamma abrogates profibrogenic TGF-beta signaling in liver by targeting expression of inhibitory and receptor Smads [J]. *J Hepatol*, 2007, 46(2): 295-303.
- [61] 刘戈云, 何文华, 李弼民, 等. 熊果酸对瘦素诱导的肝星状细胞 JAK2-STAT3 活化及活性氧产生的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(19): 2016-2020.
- [62] Cummins C B, Wang X F, Nunez Lopez O, *et al.* Luteolin-mediated inhibition of hepatic stellate cell activation via suppression of the STAT3 pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6): 1567.
- [63] Heusinger E, Kirchhoff F. Primate lentiviruses modulate NF- $\kappa$ B activity by multiple mechanisms to fine-tune viral and cellular gene expression [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 198.
- [64] 朱慧, 平键, 徐列明. NF- $\kappa$ B 通路在肝纤维化进展和中药抗肝纤维化机制中的作用 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(4): 858-861.
- [65] 陈涛, 何文华, 黄雯, 等. 熊果酸对肝星状细胞内 AP-1、NF- $\kappa$ B 表达的影响 [J]. *广东医学*, 2016, 37(17): 2545-2548.
- [66] Lin X, Li Y, Zhang X, *et al.* Tormentone acid inhibits hepatic stellate cells activation via blocking PI3K/Akt/mTOR and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Cell Biochem Funct*, 2021, 39(1): 77-87.
- [67] Lin X, Wei Y Y, Li Y, *et al.* Tormentone acid ameliorates hepatic fibrosis *in vivo* by inhibiting glycerophospholipid metabolism and PI3K/Akt/mTOR and NF- $\kappa$ B pathways: Based on transcriptomics and metabolomics [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 801982.
- [68] 陈磊. 红景天苷抗肝纤维化: 涉及 ROS 相关的 TGF- $\beta$ 1, NF- $\kappa$ B, MMPs/TIMPs 及 NO 通路 [D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [69] 南洋, 董辉, 王志刚, 等. 肝纤维化动物实验模型的研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2022, 19(12): 34-37.

[责任编辑 赵慧亮]